

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Marie Hynková

Maternální a fetální mikrochimérismus

Maternal and fetal microchimerism

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Tereza Tlapáková, Ph.D.

Praha, 2021

Poděkování

Děkuji své školitelce RNDr. Tereze Tlapákové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 3.5.2021

Marie Hynková

Abstrakt

Mikrochimérismus je definován jako přítomnost malého množství geneticky odlišných buněk v těle člověka. Nejčastěji vzniká během těhotenství a kojení, dále také krevní transfuzí a transplantací. Během těhotenství dochází k obousměrné transplacentární migraci buněk mezi matkou a dítětem. Buňky přenesené v průběhu těhotenství a kojení, mohou přetrvávat v organismu dítěte až do dospělosti. Prostřednictvím mateřského mléka je během kojení do těla dítěte přenášeno velké množství imunitních buněk, které dítě chrání před patogeny a podílí se na modulaci jeho imunitního systému. Fetální buňky přetrvávají v organismu matky až několik desítek let a mohou mít dlouhodobý vliv na její zdravotní stav. Mohou se účastnit obnovy poškozených tkání matky, ale také přispět ke vzniku závažných autoimunitních onemocnění.

Klíčová slova: mikrochimérismus, těhotenství, porod, kmenové buňky, autoimunitní onemocnění

Abstract

Microchimerism is defined as the presence of small amount of genetically distinct cells in one individual. It most often arises during pregnancy and breastfeeding. It can also arise from blood transfusion or organ transplantation. During pregnancy there occurs a bidirectional migration of cells through the placenta between the mother and the fetus. Cells which are transferred during pregnancy and breastfeeding can persist in the offspring until adulthood. During breastfeeding, a big number of immune cells is transferred to the offspring via mother's milk. These cells protect the offspring against pathogens and are involved in modulation of its immune system. Fetal cells persist in mother organism even decades after giving birth and can have long-lasting effect on mother's health condition. These fetal cells can help to regenerate mother's damaged tissues, but they can also contribute to the development of serious autoimmune diseases.

Key words: microchimerism, pregnancy, delivery, stem cells, autoimmune disease

Seznam zkratek

AD	Alzheimer's disease, AD Alzheimerova choroba
aGvHD	acute graft-versus-host disease akutní reakce štěpu proti hostiteli
APC	Antigen-presenting cells antigen prezentující buňky
CD	Cesarean delivery porod císařským řezem
cfDNA	cell-free DNA bezbuněčná fetální DNA
DAMP	Damage-associated molecular patterns molekuly asociované s poškozením
FMc	fetal microchimerism fetální mikrochimérismus
HLA	human leukocyte antigen hlavní histokompatibilní systém
HSCs	hematopoietic stem cells hematopoetické kmenové buňky
MMc	maternal microchimerism maternální mikrochimérismus
MP Mc	mother-of-proband microchimerism mikrochimérické buňky pocházející z vlastní matky probanda
MRR	mean relapse rate míra relapsů za rok

MSCs	mesenchymal stem cells mezenchymální kmenové buňky
NIMAs	non-inherited maternal antigens nezděděné maternální antigeny
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns molekuly asociované s patogenem
RS	Multiple sclerosis roztroušená skleróza
SS	Sjögren's syndrome Sjögrenův syndrom
SSc	Systemic scleroderma systémová sklerodermie
TA-GvHD	Transfusion-associated graft-versus-host disease transfuzí asociovaná reakce štěpu proti hostiteli
TA-Mc	transfusion-associated microchimerism transfuzí asociovaný mikrochimérismus
VD	Vaginal delivery vaginální porod
VEGF-A	vascular endothelial growth factor A vaskulární endotelový růstový faktor-A
VEGFR - 1	vascular endothelial growth factor receptor 1 vaskulární endotelový růstový - 1

Obsah

1. Úvod	1
2. Mikrochimérismus.....	2
3. Vznik mikrochimérismu.....	3
3.1 Těhotenství	3
3.2 Transplantace.....	3
3.3 Transfuze	4
3.4 Reakce štěpu proti hostiteli	4
4. Fetální mikrochimérismus	5
4.1 Transplacentární migrace fetálních buněk.....	6
4.2 Perzistence fetálních buněk v těle matky	11
4.3 Vznik imunologické tolerance plodu.....	12
5. Maternální mikrochimérismus.....	13
5.1 Kojení	16
6. Vliv mikrochimérismu.....	18
6.1 Preeklampsie.....	18
6.2 Autoimunitní onemocnění	19
6.2.1 Vliv mikrochimérismu na vznik autoimunitních onemocnění	19
6.2.2 Vliv mikrochimérismu na probíhající autoimunitní onemocnění	20
6.3 Obnova poškozených tkání.....	21
6.4 Neurodegenerativní onemocnění	23
6.5 Nádorová onemocnění.....	23
7. Závěr.....	25
8. Seznam literatury.....	26

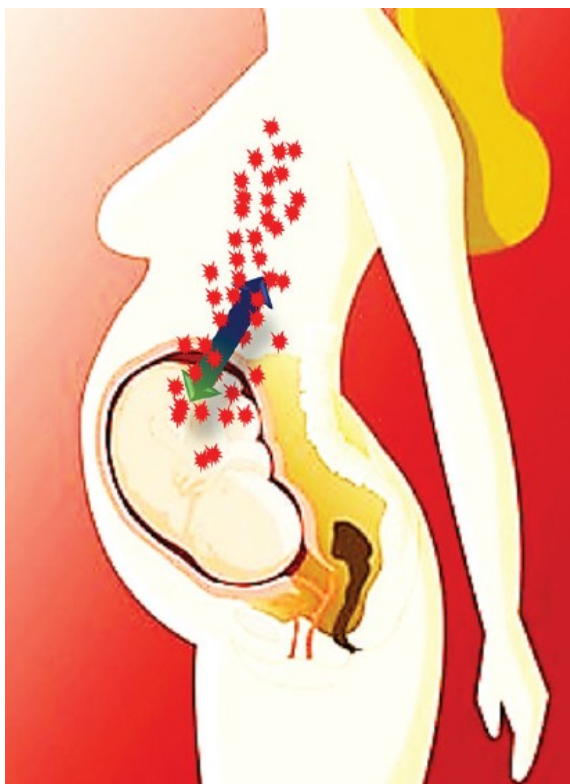
1. Úvod

Mikrochimérismus je definován jako přítomnost malého množství geneticky odlišných buněk v těle člověka. Hlavním a naprosto přirozeným způsobem vzniku mikrochimérismu, je těhotenství. V těhotenství buňky plodu a matky obousměrně migrují z matky do dítěte a naopak. Mateřské mikrochimérické buňky získané v těhotenství mohou v jedinci setrvávat až do dospělosti. Fetální buňky, které se během těhotenství dostanou do organismu matky, mohou v jejím těle přetrvávat až několik desítek let a mohou mít dlouhodobý pozitivní vliv na její zdraví zejména co se týče obnovování tkání. Na druhou stranu se ale může také podílet na vzniku velmi závažných autoimunitních onemocnění. Další přirozený způsob vzniku mikrochimérismu je kojení. Mateřské mléko je zdrojem velkého množství nejen živin, ale i imunitních buněk, které se podílí na ochraně novorozence před patogeny. Mikrochimérismus vzniká také například po krevní transfuzi nebo transplantaci. Problematika mikrochimérismu je zajímavá, avšak velmi obsáhlá a v některých oblastech nejsou ještě mnohé skutečnosti zcela objasněny.

Cílem této práce je popsat možnosti vzniku mikrochimérismu a zhodnotit jeho pozitivní a negativní vlivy na zdraví jedince.

2. Mikrochimérismus

Mikrochimérismus je jev, při kterém je v jedinci přítomno malé množství geneticky odlišných populací buněk. Mikrochimérismus přirozeně vzniká během těhotenství, kdy dochází k obousměrné transplacentární migraci buněk z matky do dítěte a z dítěte do matky a následně během porodu (Obr. 1) (Shrivastava *et al.*, 2019).



Obr. 1: Migrace buněk plodu do krevního oběhu matky a buněk matky do krevního oběhu plodu (převzato a upraveno z Shrivastava *et al.*, 2019).

Přenos buněk z fetálního krevního oběhu do matčina krevního oběhu se nazývá fetální mikrochimérismus (FMc). Je to nejznámější forma přirozeně indukovaného mikrochimérismu a je také nejvíce prostudovaná. Transport fetálních buněk do mateřského oběhu je vyšší než transport mateřských buněk do plodu (Lo *et al.*, 2000). Může vést ke vzniku autoimunitních onemocnění nebo nádorů u matky. Na druhé straně je spojován s obnovou tkání těhotné ženy a následnou delší dobou dožití.

Přenos buněk matky do oběhu plodu se nazývá maternální mikrochimérismus (MMc). MMc buňky migrují do plodu během těhotenství, porodu a poté při kojení. Mají podíl mimo jiné na imunizaci plodu či novorozence (Shrivastava *et al.*, 2019).

Během těhotenství do matčina oběhu migruje i bezbuněčná fetální DNA (cfDNA), která se využívá v prenatalní diagnostice. Neinvazivní prenatalní testování (NIPT) slouží k včasnému odhalení aneuploidii u plodu (Cuckle *et al.*, 2015).

3. Vznik mikrochimérismu

Vznik mikrochimérismu se dá rozdělit do dvou linií na přirozený a umělý. Přirozený vzniká přirozenými mechanismy a řadí se sem mikrochimérismus vzniklý během těhotenství, porodu, potratu a mezi dvojčaty. Umělý mikrochimérismus vzniká podáním transfuze a transplantací (Shrivastava *et al.*, 2019).

3.1 Těhotenství

Fetální buňky v krevním oběhu matky je možné detekovat během téměř celého těhotenství. Jejich množství však závisí na gestačním stádiu plodu. Ve studii zabývající se charakterizací kinetiky fetálních buněk a cfDNA bylo zjištěno, že fetální buňky a cfDNA je možné v krvi matky detekovat již mezi 7. až 16. týdnem těhotenství. Po 24. týdnu se koncentrace zvyšuje a maxima dosahuje v době porodu (Ariga *et al.*, 2001).

Množství přenesených buněk po porodu klesá. Malé množství mikrochimérických buněk však může být v matce i dítěti detekováno i několik desítek let po porodu a následným těhotenstvím přeneseno do dalších generací (Miech, 2010).

3.2 Transplantace

Transplantace je proces, při kterém je přenesen orgán nebo tkáň dárce do těla příjemce nebo z jedné části těla jedince na jinou. Nejméně riziková je autologní transplantace, kdy nehrozí odmítnutí tkáně, protože je vlastní transplantovaná tkáň - např. kůže, přenášena na jiné místo téhož člověka. V případě alogenní transplantace jsou do těla příjemce přenášeny tkáně nebo orgány dárce, což s sebou nese riziko odhojení štěpu (Shrivastava *et al.*, 2019).

U alogenní transplantace dochází ke vzniku mikrochimérismu. V rámci výzkumu byl mikrochimérismus detekován u 8 pacientů (80 %) po 2 dnech po alogenní transplantaci ledviny. Po 3 měsících po transplantaci buněk byla přítomnost mikrochimérických buněk potvrzena u 5 pacientů (50 %), u 3 pacientů (30 %) již detekován nebyl. Po 3 měsících od transplantace nebyly u žádného z 5 pacientů s potvrzenou přítomností mikrochimérických buněk pozorovány žádné známky akutního buněčně zprostředkovaného odmítnutí štěpu nebo aktivní protilátky proti štěpu. Na druhou stranu došlo v jednom případě k akutnímu odmítnutí

štěpu, a to u pacienta, u kterého nebyl mikrochimérismus po 3 měsících od transplantace detekován. Na základě těchto výsledků autoři usuzují, že detekce mikrochimérismu v příjemci po 3 měsících od transplantace, může souviset s nižším výskytem odmítnutí štěpu. Sledováním přítomnosti mikrochimérismu v čase, by mohlo být možné identifikovat příjemce s nízkým rizikem odmítnutí štěpu (Kishikawa *et al.*, 2014).

3.3 Transfuze

Krevní transfuze je specifický případ transplantace tkáně. Krev dárce je vpravena do krevního oběhu pacienta např. z důvodu traumatu, anémie či u některých z důvodu imunodeficience. Po přijetí krve dárce mohou v příjemci krátkodobě i dlouhodobě přetrvávat bílé krvinky dárce. Tento jev je označován jako transfuzí asociovaný mikrochimérismus (transfusion-associated mikrochimerism, TA-Mc) (Shrivastava *et al.*, 2019).

V roce 2008 byla provedena kohortní studie pro zjištění výskytu krátkodobého a dlouhodobého TA-Mc s transfuzí po traumatu. Krátkodobý TA-Mc (mikrochimérismus pozorovaný mezi 10. a 180. dnem po transfuzi) byl detekován u 64 % pacientů a dlouhodobý (mikrochimérismus pozorovaný déle než 180 dní po transfuzi) u 26 % pacientů. V roce 2018 až 2019 byla testována další skupina pacientů po transfuzi, při níž byl detekován krátkodobý TA-Mc pouze u 6,8 % pacientů a dlouhodobý TA-Mc pouze u 0,5 % pacientů. Velké rozdíly v množství vzorků s potvrzeným TA-Mc podle autorů souvisí s novými postupy ve zpracování krve, které se stále vyvíjejí, a to zejména při leukoredukci (Jackman *et al.*, 2019). Při leukoredukci je eliminováno množství leukocytů v krevním vzorku, aby se snížilo riziko přenosu infekce prostřednictvím leukocytů při transfuzi (Blumberg *et al.*, 2010) a také riziko rozvoje závažného onemocnění reakce transplantátu proti hostiteli.

3.4 Reakce štěpu proti hostiteli

K rozvoji tohoto vážného onemocnění vedoucího ke vzniku silné zánětlivé imunitní reakce po alogenní transplantaci kostní dřeně a po krevní transfuzi dochází jen velmi zřídka, nicméně je velmi závažné a může končit smrtí pacienta.

Po alogenní transplantaci hematopoetických buněk může dojít k rozvoji onemocnění zvanému akutní reakce štěpu proti hostiteli (acute graft-versus-host disease, aGvHD). Toto onemocnění se objevuje během prvních 100 dní po transplantaci a je způsobeno zralými T-lymfocyty dárce, které jsou přeneseny do hostitele spolu s hematopoetickými kmenovými buňkami a reagují na antigeny hostitele. Během chemoterapeutické a radiační léčby

předcházející transplantaci může u hostitele dojít k poškození tkání vedoucí k uvolnění alarminů – molekul asociovaných s poškozením (Damage-Associated Molecular Patterns, DAMP), které iniciují a zároveň udržují neinfekční zánětlivou odpověď a molekul asociovaných s patogenem (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMP), které zahajují a udržují infekční zánětlivou odpověď. Dochází také k aktivaci antigen-prezentujících buněk (APC) na něž reagují dárcovské T-receptory, rozpoznávají je jako cizí a stimulují T-lymfocyty dárce. Ty poté proliferují a diferencují na efektorové buňky produkující prozánětlivé cytokiny, jež lákají do místa zánětu další buňky imunitního systému. Efektorové buňky následně vstupují do tkání hostitele, kde způsobují závažná poškození (Li *et al.*, 2020).

Po krevní transfuzi může dojít k rozvoji onemocnění označované jako transfuzí asociovaná reakce štěpu proti hostiteli (Transfusion-associated graft-versus-host disease, TA-GvHD), kdy jsou v krevním derivátu od dárce přenášeném do pacienta přítomné i imunologicky kompetentní leukocyty dárce. Ve většině případů leukocyty dárce v příjemci nepřežívají déle než několik týdnů po transfuzi, protože jsou destruovány imunitním systémem příjemce. Ke vzniku TA-GvHD dochází v případě, že hostitel produkuje tkáňové antigeny odlišné od donora a imunitní systém příjemce není natolik kompetentní, aby zničil leukocyty dárce. Leukocyty dárce reagují na antigeny příjemce a dochází k poškození tkání, nejčastěji kostní dřeně, kůže a trávicího traktu, což bývá ve většině případů smrtelné (Pritchard a Shaz, 2016; Jackman *et al.*, 2019).

4. Fetální mikrochimérismus

Během těhotenství a porodu dochází k průniku fetálních buněk do krevního oběhu matky. Tento jev byl definován jako fetální mikrochimérismus (FMc). Buňky, jež pronikají do těla matky mohou být například fetální imunitní buňky, kmenové hematopoetické buňky, buňky trofoblastu nebo mezenchymální kmenové buňky (Klonisch a Drouin, 2009).

Mesenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells, MSCs) se řadí mezi multipotentní buňky schopné diferenciaci do různých buněčných typů, jako jsou osteocyty, chondrocyty nebo adipocyty. Běžně se vyskytují v kostní dřeni a tukové tkáni dospělých jedinců. MSCs také migrují do místa poškození v organismu a podílejí se na reparaci postižené tkáně. Je již známo, že MSCs pocházející z kostní dřeně, je možno namnožit *in vitro*, a poté využít *in vivo* jejich schopnost migrace do postižené tkáně a diferenciaci do potřebného buněčného typu. Fetální MSCs byly izolovány z krve, jater a kostní dřeně plodu. V krvi plodu se koncentrace volných MSCs s jeho zvyšujícím se věkem snižuje. Mesenchymální kmenové

buňky pocházejících z plodu mohou mít vliv na obnovu poškození organismu matky (Campagnoli *et al.*, 2001).

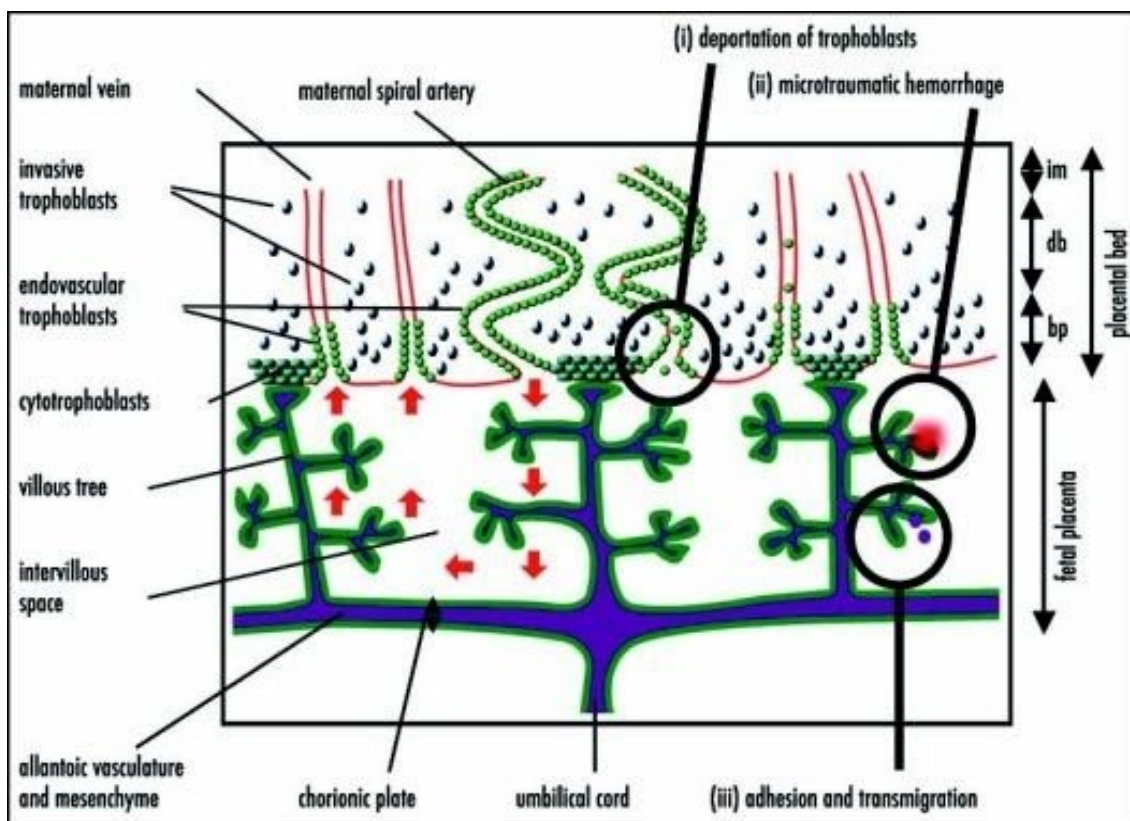
Dalším zdrojem multipotentních kmenových buněk je pupečnicková krev. V tomto případě jde o hematopoetické kmenové buňky, jež jsou základem krvetvorby. Hematopoetické kmenové buňky jsou po transplantaci schopné migrovat krví do kostní dřeně, kde začnou vytvářet nové bílé krvinky, červené krvinky a krevní destičky. Obvykle k tomu dochází do 2 až 4 týdnů po transplantaci. Darovaná pupečnicková krev tedy může být využita pro alogenní transfuzi. V případě feto-maternálního přenosu může hematopoetická kmenová buňka migrovat do kostní dřeně matky a vytvořit tak linii sebeobnovujících se fetálních hematopoetických buněk.

V krvi matky jsou během těhotenství detekovatelné i fetální lymfocyty. Přítomnost fetálních CD4+ i CD8+ lymfocytů v krvi matky byla v rámci studie detekována ve vzorcích z 2. a 3. trimestru. Z dříve či později odebraných vzorků krve tyto buňky již detekovány nebyly. Množství fetálních CD4+ a CD8+ buněk v krvi matky se v průběhu těhotenství zvyšovalo, což bylo zřejmě způsobeno blížícím se porodem (Waldorf *et al.*, 2010).

4.1 Transplacentární migrace fetálních buněk

Mateřský a fetální krevní oběh je oddělen placentou, která slouží jako bariéra. Není však naprosto nepropustná a malé množství fetálních buněk přes ní může přecházet do matčina krevního oběhu. Možná je to pouhý fenomén spojený s těhotenstvím nebo je to mechanismus, kterým dítě zlepšuje zdraví matky a tím zvyšuje i svou vlastní šanci na přežití.

Do placenty proudí krev matky od konce prvního trimestru těhotenství. Mateřská krev je ve fetální části placenty v přímém kontaktu s choriovými klky, v nichž koluje krev proudící z pupeční šňůry plodu (Obr. 2).



Obr. 2: Schéma placenty a způsoby migrace fetálních buněk do krevního oběhu matky.

(i) deportace trofoblastu, (ii) mikrotraumatické krvácení, (iii) adheze a transmigrace. Zeleně – buňky trofoblastu na povrchu choriových klků (převzato z Dawe *et al.*, 2007).

Bariéru mezi oběhem matky a fetální tkání tvoří vrstva buněk odvozených od trofoblastu. Trofoblast je populace buněk tvořící vnější obal blastocysty a později ve vývoji z této vrstvy vzniká velká část placenty. Buňky trofoblastu jsou na povrchu choriových klků a dochází přes ně k výměně plynů, živin a odpadních produktů metabolismu plodu. Mohou také vycestovat z povrchu choriových klků a nasedat na vnitřní povrch mateřských spirálních tepen. Poté může dojít k jejich uvolnění do krve matky a setrvání v jejím organismu (Dawe *et al.*, 2007).

Přítomnost buněk trofoblastu v těle matky byla prvním zdokumentovaným případem feto-maternálního přenosu buněk. V roce 1893 německý patolog Georg Schmorl při pitvě těhotných žen, které zemřely kvůli preeklampsii, našel buňky trofoblastu v jejich plicích. Popsal také, že k feto-maternálnímu přenosu buněk dochází i během normálního těhotenství, avšak případy preeklampsie je tento přenos značně zvýšen a způsobuje patologii (Lapaire *et al.*, 2007).

Další možný přenos fetálních buněk do těla matky je kromě migrace buněk trofoblastu také feto-maternální krvácení a transmigrace buněk adhezí k placentární bariéře. Ke vzniku mikrotraumatického feto-maternálního krvácení dochází po narušení povrchu choriového klku. Následkem poškození dojde k výronu krve do místa, kde proudí mateřská krev a následnému vtoku fetálních buněk do jejího oběhu. Mikrotraumatické krvácení vzniká zejména při invazivních zákrocích během těhotenství jako je odběr choriových klků, odběr plodové vody, ale také například při úrazu břicha matky (Klonisch a Drouin, 2009).

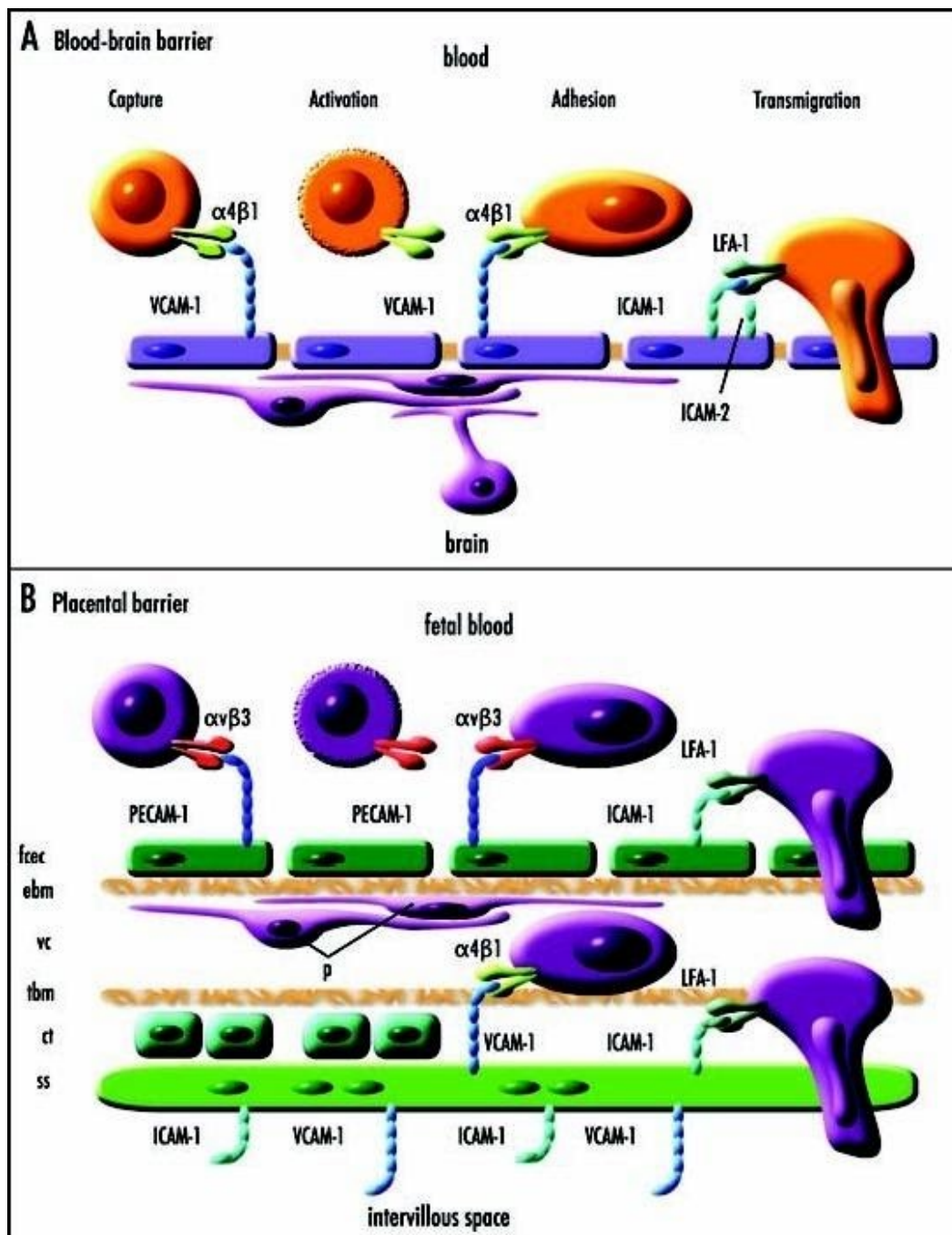
Dalším způsobem, jakým mohou fetálních mikrochimérické buňky pronikat do matčiny krve, je feto-maternální krvácení. Jedná se o masivnější krvácení, než je mikrotraumatické a dochází při něm k přímému poškození části placenty. Vzniká zejména během porodu, ale také při interrupci či spontánním potratu. V důsledku narušení placentární bariéry mezi krevními oběhy plodu a matky mohou fetální buňky pronikat do krve matky.

Míru feto-maternálního krvácení ovlivňuje řada faktorů, jako je například způsob porodu. Do kohortní studie zaměřující se na míru vzniku mikrochimérismu v závislosti na způsobu porodu, bylo zapojeno 36 žen, jimž byl odebrán vzorek krve před a po porodu. U žen, jež rodily císařským řezem (Cesarean delivery, CD) byl detekován FMc u 58,3 % vzorků, u žen s vaginálním porodem (Vaginal delivery, VD) byl detekován FMc u 16,7 % vzorků (Shree *et al.*, 2019). Značně vyšší přenos fetálních buněk byl tedy zaznamenán u žen po císařském řezu. Během CD zřejmě dochází k většímu kontaktu krve matky a dítěte, a tedy ke vzniku FMc. U VD k němu dochází pouze v omezené míře, jelikož běžně nedochází k přímému narušení placenty.

Souvislost mezi mírou feto-maternálního krvácení a FMc byla potvrzena také v případě samovolného potratu a chirurgické interrupce. Značně vyšší přenos FMc buněk je sledován po chirurgické interrupci, jelikož při ní dochází k výraznému porušení placenty a následnému krvácení. Při spontánním potratu je přenos FMc v porovnání s chirurgickou interrupcí značně menší (Shrivastava *et al.*, 2019). Výsledky studie zabývající se množstvím fetálních buněk v periferní krvi matky po plánovaném ukončení těhotenství ukazují, že ke vzniku FMc dochází již při ukončení těhotenství v prvním trimestru. Při ukončení těhotenství v průběhu druhého trimestru, pak bylo zaznamenáno větší množství fetálních buněk v krvi matky, což zřejmě souvisí s objemem fetoplacentární krve, který narůstá s gestačním věkem plodu (Bianchi *et al.*, 2001). Přítomnost mužských fetálních buněk byla také detekována u ženy, jež neporodila žádného syna, ale měla za sebou v minulosti tři spontánní potraty (O'Donoghue *et al.*, 2004). Z těchto faktů lze tedy usoudit, že i těhotenství trvající jen několik měsíců může mít pro matku dlouhodobé zdravotní následky. Mohou být pozitivní, jako například možná obnova tkání

matky, ale je důležité zohlednit i negativní důsledky přítomnosti fetálních buněk v matčině těle, jako je například vznik autoimunitních chorob.

Další možností migrace fetálních buněk je migrace adhezí k placentární bariéře. Přesný způsob, jakým fetální buňky překonávají placentární bariéru není znám. Zdá se však, že by mohl být podobný způsobu, jakým přecházejí lymfocyty přes hematoencefalickou bariéru (Obr. 3).

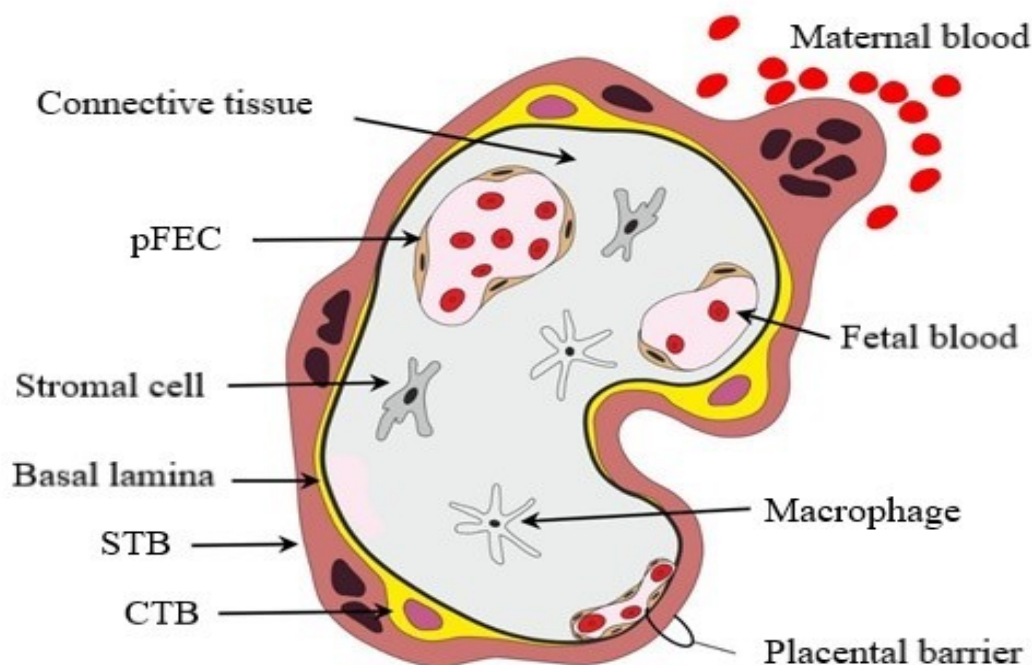


Obr. 3: Schéma předpokládaných molekulárních mechanismů migrace (A) lymfocytů přes hematoencefalickou bariéru a (B) fetálních buněk přes placentární bariéru.

Fcec – fetální endoteliální buňky; ebm – endoteliální bazální membrána; tbm – bazální membrána buněk trofoblastu; ct – buňky cytotrofoblastu; ss – buňky syncytia syncytiotrofoblastu (převzato z Dawe *et al.*, 2007).

V průběhu těchto mechanismů hraje důležitou úlohu integrin $\alpha 4\beta 1$ (very late antigen 4, VLA-4). Tento integrinový dimer se nachází na povrchu lymfocytů a dalších buněk imunitního systému, ale i na povrchu kmenových buněk a progenitorových buněk, jež jsou ve fetální krvi. Při vývoji plodu je jeho role zásadní zejména v interakcích buňka-buňka. Při poškození jeho podjednotek nebo inhibici vazby, může docházet k abnormálnímu vývoji placenty, vývoji plodu se srdečními malformacemi nebo úmrtí plodu (Crofts *et al.*, 2004).

T-lymfocyty, s integrinem $\alpha 4\beta 1$ na svém povrchu, jsou zachycovány buňkami endotelu, které na svém povrchu exprimují adhezivní molekuly VCAM-1. Následuje fáze rychlé nebo prodloužené aktivace. Fáze rychlé aktivace se účastní chemokiny a jejich ligandy (např. chemokin CCL19 s ligandem ELC) a prostup buněk přes endotel je velmi rychlý. Během prodloužené fáze aktivace dochází k velmi pomalé adhezi lymfocytu k endotelu a následné transmigraci pomocí vazby LFA-1 integrinu na povrchu lymfocytu na glykoprotein ICAM-1 nebo ICAM-2 na buňkách endotelu. Vzhledem k tomu, že se integrin $\alpha 4\beta 1$ vyskytuje na povrchu mnoha fetálních buněk, můžeme předpokládat, že podobným mechanismem může probíhat i migrace fetálních buněk přes placentární bariéru. Na (Obr. 3) je znázorněn přechod fetálních buněk z cév plodu, jež se nachází v choriovém klku (Obr. 4), do části placenty vyplněné mateřskou krví.



Obr. 4: Schéma choriového klku. pFEC – feto-placentární endoteliální buňky; CTB – cytotrofoblast; STB – syncytiotrofoblast (převzato a upraveno z Chatuphonprasert *et al.*, 2018).

Buňky musí projít přes vrstvu feto-placentárních endoteliálních buněk a endoteliální bazální membránu, nacházející se na povrchu cév vedoucích z pupečníku plodu. Zde je důležitá vazba integrinu LFA-1 fetální buňky na glykoprotein ICAM-1 buněk endotelu. Poté dochází pomocí vazby integrinu $\alpha 4\beta 1$ fetální buňky na transmembránový protein VCAM-1 syncytiotrofoblastu k adhezi buňky a následně pomocí vazby LFA-1 a ICAM-1 k transmigraci bazální membránou trofoblastu, cytotrofoblastu i syncytiotrofoblastu (Dawe *et al.*, 2007).

4.2 Perzistence fetálních buněk v těle matky

Fetální buňky se dostávají do těla matky během těhotenství, porodu nebo po potratu. Tyto buňky přetrvávají v jejím organismu a mají schopnost migrovat do místa poškození tkání a podílet se díky svému diferenciačnímu potenciálu na jejich reparaci. Mohou proto mít vliv na delší dobu dožití žen. Mohou se ale také podílet na vzniku autoimunitních onemocnění nebo nádorů. Přítomnost mikročimérických buněk byla mnoha studiemi prokázána v různých orgánech matky i velmi dlouhou dobu po porodu. U ženy, jež porodila svého posledního syna před 27 lety, bylo stále možné detekovat FMc. V jiné studii byly mužské fetální buňky detekovány z kostní dřeně nebo kosti matky i po 38 letech od narození posledního syna (Bianchi *et al.*, 1996, O'Donoghue *et al.*, 2004). U žen s delší dobou od porodu byl nalezen

větší počet mikrochimérických buněk, což se dá vysvětlit tím, že buňky průběžně proliferovaly, což způsobilo jejich vyšší počet v organismu matky (Johnson *et al.*, 2002). Fetální mikrochimérické buňky tedy mohou v těle matky přetrvávat i několik desítek let a podílet se například na reparaci poškozených tkání matky.

4.3 Vznik imunologické tolerance plodu

Hlavní roli na vzniku a udržování imunologické tolerance mají regulační CD4⁺ T-lymfocyty (T_{reg}). Jejich hlavní povrchovou molekulou jsou molekuly CD4 a CD25. Jejich funkcí je zejména tlumení imunitní odpovědi. Potlačováním reaktivity autoreaktivních T-lymfocytů brání vzniku autoimunitních onemocnění. Na druhou stranu však mohou chránit i nádorové buňky tak, že tlumí zánět v jejich okolí a potlačují tím imunitní odpověď proti nádoru. Pro vznik T_{reg} je důležitý gen FOXP3. Protein, jež kóduje, je hlavním regulátorem ve vývoji regulačních T-lymfocytů. Pokud není funkční, nedochází k vývoji regulačních T-lymfocytů a vznikají velmi závažná autoimunitní onemocnění. V těhotenství mají regulační T-lymfocyty velmi důležitou roli. Tlumí imunitní reakce matky a indukují toleranci plodu. Oplodněný oocyt se skládá z mateřské a otcovské genetické informace. Mateřské i otcovské antigeny jsou již velmi brzy přítomny na povrchu oplodněného oocyту. Otcovské antigeny plodu, které jsou mateřským imunitním buňkám cizí, spouští alogenní stimulaci imunitního systému matky, která vede ke vzniku tolerance vůči otcovským antigenům plodu. Ta zamezuje vzniku imunitní reakce a případnému odmítnutí plodu. V případě poruch imunity, kdy není imunitní systém schopen kontrolovat reakci na otcovské antigeny, může dojít ke vzniku zánětlivé reakce. Ta poté může mít vliv na předčasné ukončení těhotenství (Krechetova *et al.*, 2020).

V provedené studii bylo množství CD4⁺ CD25⁺ buněk v krvi vyšší u žen, jež byly těhotné ve srovnání s ženami, jež těhotné nebyly. Větší množství CD4⁺ a CD25⁺ buněk bylo detekováno ve 2. trimestru v porovnání s trimestrem prvním (Sánchez-Ramón *et al.*, 2005). Tyto výsledky odpovídají tomu, že se během těhotenství vytváří množství T_{reg} lymfocytů, které indukují toleranci plodu.

Fetální mikrochimérické buňky mají v navození tolerance plodu také velmi důležitou funkci. Indukují tlumení reakce imunitního systému matky na otcovské antigeny ve fetálních buňkách a navozují tím toleranci plodu (Klonisch a Drouin, 2009). Ve studii byly analyzovány vzorky krve odebrané ženám, jež byly v minulosti těhotné a čekaly syna. Ve 37 % vzorků byly poté detekovány H-Y antigen specifické CD8⁺ T-lymfocyty (H-Y je antigen specifický pro mužské tkáně). Množství H-Y specifických CD8⁺ lymfocytů se zvyšovalo s počtem synů, které

žena porodila. H-Y specifické T-lymfocyty zřejmě pocházejí z progenitorových buněk plodu, které matka získala během těhotenství. Ty poté podstoupily diferenciaci a maturaci a daly vznik T-lymfocytům. Alogenní fetální mikrochimérické buňky jsou tedy mateřským imunitním systémem tolerovány. V krvi matky byly H-Y specifické T-lymfocyty detekovány i po 8 letech od posledního těhotenství (Piper *et al.*, 2007).

5. Maternální mikrochimérismus

Maternální mikrochimérismus (MMc) je jev, kdy jsou v krevním oběhu a tkáních plodu přítomny buňky matky. K jejich přenosu dochází zejména během porodu a poté kojením. Je však méně častý než fetální mikrochimérismus. V krvi plodu je možno detekovat mateřské T-lymfocyty, B-lymfocyty, hematopoetické progenitorové buňky a leukocyty. Dosud byly detekovány mateřské buňky v játrech, slezině a brzlíku dítěte. MMc nebyl detekován v tkáních slinivky břišní a gonád (Götherström *et al.*, 2005). Maternální mikrochimérické buňky mohou být detekovány v periferní krvi nebo tkáních nejen v dětství, ale i v dospělosti. U dospělých žen byla ve studii zkoumána přítomnost a případně množství MMc buněk v krvi. U 39 % žen zapojených do studie, byly nalezeny buňky s maternálním původem alespoň z jedné skupiny buněk, které byly studovány. Ve vzorcích byly detekovány mateřské T-lymfocyty ve 25 % odebraných vzorků (Loubière *et al.*, 2006).

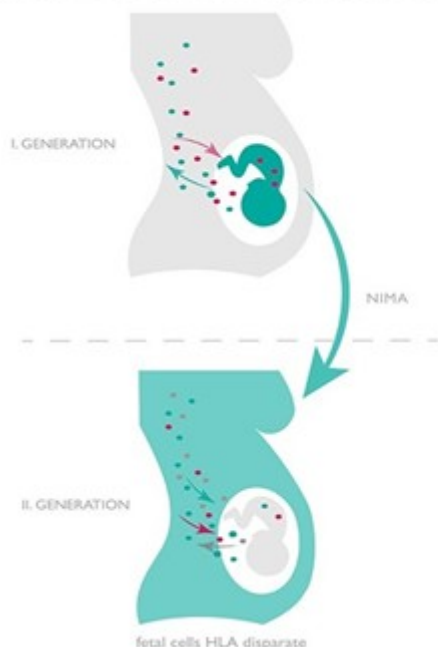
Přítomnost maternálních leukocytů a krevních destiček v krvi plodu, byla poprvé popsána v roce 1960. Těhotným ženám bylo odebráno malé množství krve, ke které se přidala látka Atabrin, které má fluorescenční účinky. Poté byla odstraněna krevní plazma a resuspendované buňky byly do 15 hodin před porodem injekčně vpraveny zpět do těla matky. Po porodu byl odebrán vzorek pupečnickové krve, ve kterém byla sledována přítomnost a množství přítomných fluorescenčně značených maternálních buněk. Ve třech případech nebyly žádné mateřské buňky detekovány. V šesti případech byly mateřské buňky detekovány, a to zejména krevní destičky, granulocyty a lymfocyty. Výsledky této studie, které prokázaly přítomnost maternálních buněk v pupečnickové krvi plodu, potvrzují možnost transplacentární migrace buněk mezi matkou a dítětem (Desai a Creger, 1963).

Na potkaních modelech byl zkoumán způsob, jakým maternální MSC buňky mohou migrovat do tkání plodu. Tento způsob migrace by měl být podobný i u člověka, jelikož oba druhy mají hemochoriální placentu. Maternální buňky musí nejdříve projít přes vrstvu trofoblastu na povrchu choriových klků a přes fetální endotel. V případě, že dojde k mikrotraumatickému feto-maternálnímu krvácení, jsou buňky matky uvolněny přímo do

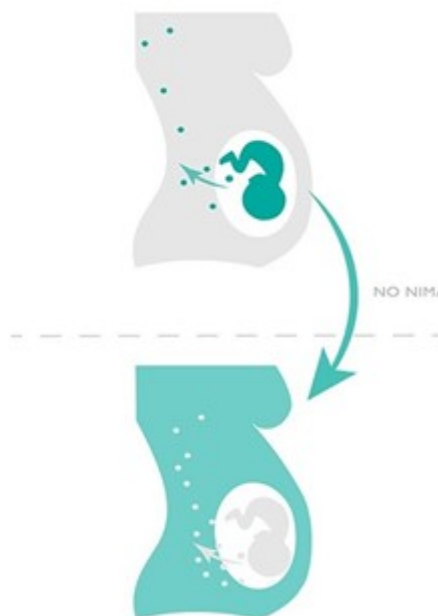
krevního oběhu plodu. Transplacentární migrace buněk, je závislá na integrinu $\alpha 4\beta 1$ (VLA-4), který se nachází na povrchu kmenových buněk a podílí se i na migraci FMc buněk do krve matky a integrinu $\alpha 5\beta 1$, který se nachází na povrchu mateřských buněk a váže se na něj fibronektin. V přítomnosti inhibitoru proti těmto integrinům nebyly kmenové buňky matky schopné migrovat přes placentu. Důležitý cytokin pro migraci buněk je vaskulární endotelový růstový faktor-A (vascular endothelial growth factor, VEGF-A), který prostřednictvím vazby na vaskulární endotelový růstový receptor - 1 (vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR - 1) indukuje migraci mateřských buněk přes endotel. Endoteliální buňky produkují velké množství fibronektinu, který se váže na integrin $\alpha 5\beta 1$ na buněčném povrchu a také VEGF-A, který se váže na VEGFR - 1 na povrchu MMc buňky. Bylo zjištěno, že fibronektin je ve velkém množství produkován lidskými endoteliálními buňkami placenty a stromatem choriových klků. Z toho vyplývá, že podobným mechanismem by mohlo docházet k migraci MMc buněk i u lidí (Chen *et al.*, 2008).

Během těhotenství exprimují mateřské buňky v těle plodu antigeny (non-inherited maternal antigens, NIMAs), které jsou plodu cizí a imunitní systém plodu by na ně měl tudíž reagovat. V těhotenství ovšem dochází k potlačení T-buněčné odpovědi plodu na mateřské antigeny a k tvorbě regulačních T-lymfocytů, které tolerují přítomnost mateřských antigenů v těle dítěte. Kontaktem maternálních antigenů s buňkami fetálního imunitního systému vzniká tolerance zřejmě díky tomu, že je imunitní systém plodu v těhotenství ještě nezralý a je tak snazší dosáhnout tolerance. Tolerance se poté ustanovuje ještě během kojení, kdy NIMAs přecházejí do těla dítěte v mateřském mléce. Na vznik tolerance NIMAs imunitním systémem plodu mají vliv i CD4⁺ a CD25⁺ T-buňky. Ty se mimo jiné podílí na vzniku T_{reg} lymfocytů, které během těhotenství zajišťují toleranci plodu matkou (Matsuoka *et al.*, 2006). Mikrochimérické buňky přenesené během těhotenství, mohou v jedinci setrvat až do dospělosti. Když poté daná žena otěhotní, může MMc buňky od své matky, které v ní po celý život setrvaly, předat svému dítěti. Ty jsou označovány jako maternální mikrochimérické buňky pocházející od vlastní matky probanda (mother-of-the-proband, MP), kdy probandem je žena čekající dítě. Podle studie migrují do plodu až od druhého trimestru a nejvyšší koncentrace MP MMc jsou zaznamenány v době krátce před porodem. Nejdůležitější je však fakt, že u žádné z žen, u kterých během těhotenství došlo k rozvoji preeklampsie, nebyla v krvi prokázána přítomnost MP MMc buněk. Nedošlo u nich tedy ani k přenosu NIMAs do plodu (Obr. 4).

TRAFFICKING OF MATERNAL AND FETAL CELLS



TRAFFICKING OF FETAL CELLS BUT NO NIMA



Obr. 4: Transplacentární migrace maternálních a fetálních buněk

Rozdíl mezi migrací MMc a FMc buněk u zdravých žen a migrací pouze FMc buněk do matky u žen s preeklampií. NIMA, non-inherited maternal antigens; zeleně – fetální buňky fétu I. generace a maternální buňky II. generace; růžově – maternální buňky I. generace; šedě – fetální buňky fétu II. generace (převzato a upraveno z Hahn *et al.*, 2019).

Na rozdíl od toho u zdravých žen byl MP MMc detekován ve 30 % případů. To, že v případě preeklampsie mateřské mikrochimérické buňky nemigrují do organismu plodu, může mít významné následky pro indukci imunitní tolerance plodu proti mateřským NIMAs (Gammill *et al.*, 2011).

Kromě tolerance na mateřské NIMAs dochází během těhotenství ke vzniku tolerance i vůči paternálním antigenům. Ty jsou nazývány jako zděděné paternální antigeny (non-inherited paternal antigen, IPA). Vznik tolerance nezděděných antigenů obou rodičů byl také potvrzen ve studii, ve které se zjišťovalo, zda je imunitní odpověď dětí na antigeny jejich rodičů snížena a zda je snížena i u rodičů v reakci na antigeny dítěte. T-lymfocyty dospělých dětí i novorozenců reagovaly se sníženou cytotoxicitou na buňky jejich rodičů. Mateřské a otcovské buňky reagovaly na buňky svých potomků s nižší cytotoxicitou než při kontaktu s buňkami cizích lidí. Přesto ale reagovaly lymfocyty rodičů na buňky vlastních dětí více, než T-buňky dětí na buňky rodičů. T-lymfocyty novorozenců i dospělých dětí tedy vykazovaly vyšší toleranci mateřských (NIMAs) a otcovských (IPAs) antigenů (Brune *et al.*, 2003).

Indukce tolerance vůči nezděděným antigenům má velké uplatnění při výběru vhodného dárce pro transplantaci. Vystavení plodu účinkům NIMAs v děloze má velký modulační dopad na imunitní odpověď, což způsobuje snížení imunitní reakce při pozdějším kontaktu s antigenem. Při hledání vhodného dárce pro alogenní transplantaci je nezbytné určení co nejpřesnějšího genotypu hlavního histokompatibilního komplexu (human leukocyte antigen, HLA) u příjemce i dárce, protože je poté menší riziko odhojení štěpu. HLA systém se vyskytuje na povrchu lidských buněk a je důležitý pro rozpoznání vlastních buněk buňkami imunitního systému. Buňky mající na svém povrchu cizí HLA antigeny jsou napadány imunitním systémem hostitele. Při haploidentické transplantaci je pouze polovina HLA antigenů shodná s příjemcem. Tento přístup je volen pouze v případě, že není možné najít příjemci vhodného HLA kompatibilního dárce. Díky expozici plodu NIMAs během těhotenství se v případě nutnosti transplantace kostní dřeně snižuje riziko rozvoje GvHD. Mateřské štěpy vykazují nižší riziko odhojení štěpu a významně méně časté chronické GvHD než štěpy od otce. Úmrtnost po použití rodičovských transplantátů byla však výrazně vyšší než při použití transplantátů od haploidentických sourozenců, kteří neměli odpovídající NIMAs (van Rood *et al.*, 2002; Shrivastava *et al.*, 2019).

5.1 Kojení

Vyjma těhotenství může k přenosu maternálních buněk do těla dítěte docházet i postnatálně prostřednictvím mateřského mléka při kojení. Mateřské buňky se do tkání dítěte dostávají zřejmě přes střevní sliznici. Přenos MMc buněk je nejvýznamnější velmi brzy po porodu, kdy mateřské mléko obsahuje největší množství MMc buněk a střevo dítěte je nejpropustnější. Typy buněk, které se tímto způsobem dostávají do organismu dítěte, nejsou ještě přesně známy, ale zdá se, že by to mohly být jak kmenové, tak progenitorové buňky a buňky imunitního systému (Molès *et al.*, 2017).

Mateřské mléko je nejen zdrojem živin pro novorozence, ale také zdrojem imunitních buněk a molekul, které chrání dítě před infekcemi, jsou důležité k modulaci imunitní odpovědi a zlepšují vývoj gastrointestinálního traktu dítěte. Vysoký obsah různých typů mateřských buněk byl nalezen zejména v kolostru. Kolostrum je mateřské mléko tvořené před porodem a produkováno v prvním týdnu po porodu. Obsahuje velké množství bílkovin a také vysoký počet mateřských buněk, zejména protilátek a dalších buněk imunity, které chrání dítě před patogeny během prvních týdnů života. Obsah leukocytů je v kolostru až 70 % všech buněk, což odpovídá 32 175 - 784 080 leukocytům na 1 ml mléka. Na konci prvního týdne po porodu v přechodném

mléce jejich koncentrace klesá až na úroveň 0 - 1,7 % celkového počtu buněk v mléce. Přechodné mléko se tvoří 2. - 4. týden po porodu a obsahuje zejména sacharidy a tuky. Zralé mléko se tvoří od 3. týdne po porodu a má velmi proměnlivé složení. Ve zralém mléce je hladina leukocytů ještě o něco nižší, než v mléce přechodném (0 - 1,5 %, 0–1151 leukocytů/1 ml mléka). Množství leukocytů v mateřském mléce je také závislé na zdravotním stavu matky a dítěte. Pokud měla matka infekci prsu nebo jakékoli jiné infekce, tak se v závislosti na rozsahu infekce hladina leukocytů výrazně lišila. V případě závažné infekce prsu, tzv. mastitidě, byly hladiny leukocytů zvýšeny až na 93,6 % všech buněk mléka. Leukocyty detekované v mléce žen s mastitidou byly monocyty, makrofágy, dendritické buňky, pomocné T-lymfocyty, cytotoxické T-lymfocyty, NK buňky a malá populace B-lymfocytů. Malé zvýšení množství leukocytů v mateřském mléce bylo pozorováno také v případě, když probíhala infekce pouze u dítěte (Hassiotou *et al.*, 2013).

Množství protilátek a cytokinů se může také lišit v závislosti na expozici patogenům. Byly pozorovány rozdíly v imunologickém složení mléka u různých žen, které během studie žily minimálně půl roku v Itálii, ale původně pocházely z jiných zemí. Ženy z Afriky, Asie a Východní Evropy pocházející z míst s nepříznivými životními podmínkami, byly srovnávány s ženami z Itálie, které měly životní podmínky dobré. Ve vzorcích mateřského mléka byly detekovány sekretované IgA protilátky zajišťující ochranu dítěte před patogeny, zejména na sliznicích a cytokiny zajišťující prozánětlivou nebo protizánětlivou regulaci reakce imunitního systému. Podle výsledků studie měly ženy pocházející z Afriky a Asie větší množství IgA protilátek proti *E. coli*, než ženy z Itálie. To zřejmě souvisí s horšími hygienickými a ekologickými podmínkami v rozvojových zemích. Ačkoliv tyto ženy již minimálně půl roku žily v Itálii, složení imunitních buněk v mateřském mléce stále odráželo podmínky, ze kterých daná žena pocházela. Tento jev autoři vysvětlují tím, že i po změně podmínek přetrvává imunologická paměť. IL-8 je velmi důležitý chemotaktický cytokin, který stimuluje neutrofilů k adhezi a migraci. Nejvyšší koncentraci IL-8 měly ženy z Východní Evropy, ale byl běžně nalezen v mléce všech žen, zřejmě kvůli tomu, že ho novorozenci mohou mít nedostatek. Mléko matek pocházejících z Afriky, mělo nejnížší hladinu IL-10. To by mohlo být vysvětleno tím, že IL-10 může potenciálně snižovat prozánětlivou imunitní odpověď, což ale v podmínkách, kde hrozí infekce environmentálními patogeny, není žádoucí. Imunologická paměť tedy přetrvává nezávisle na místě, ve kterém matka přechodně žije. Je však obzvlášť důležitá v místech, kde jsou infekce velmi časté a těžké (Ciardelli *et al.*, 2007).

6. Vliv mikrochimérismu

Jak již bylo zmíněno, vznik mikrochimérismu může mít vliv na zdravotní stav ženy nejen po porodu, ale také po celý zbytek života. Mezi pozitivní vlivy patří zejména obnova poškozených tkání matky nebo menší pravděpodobnost rozvoje neurodegenerativních onemocnění a vzniku nádorů. Mezi negativní patří zejména rozvoj preeklampsie a možný vznik autoimunitních onemocnění.

6.1 Preeklampsie

Preeklampsie je závažné multisystémové onemocnění, které se vyskytuje obvykle v druhé polovině těhotenství. V rozvojových zemích je toto onemocnění zodpovědné až za 20 % úmrtí matek, nicméně i za předčasné porody a růstové restrikce plodu. Může mít projev mateřského syndromu, který je charakterizován hypertenzí, edémy a proteinurií. Projev dětského syndromu je charakteristický omezeným růstem placenty i dítěte, nedostatkem plodové vody a nedostatečným okysličováním krve dítěte. Pokud není preeklampsie rozeznána a včas léčena, může dojít k rozvoji eklampsie, která se projevuje silnými křečemi, ztrátou vědomí a může vést až k úmrtí matky. Etiologie onemocnění dosud není konkrétně známa (Sibai *et al.*, 2005).

Souvislost mezi FMc a preeklampií byla poprvé popsána již v roce 1893 německým patologem Georgem Schmorlem, který našel buňky trofoblastu v plicích žen po úmrtí na preeklampií (Lapaire *et al.*, 2007). Fetální mikrochimérismus byl detekován v 32 % vzorků krve žen s preeklampií, u zdravých kontrol byl detekován pouze 6 %. I množství FMc buněk vztažených na ekvivalent mateřských buněk, bylo u žen s preeklampií výrazně vyšší. U žen s preeklampií bylo množství FMc buněk 153,7 na 100 000 buněk matky, u zdravých žen maximálně 9,1 fetálních buněk na 100 000 buněk matky. Výsledky ukazují, že u žen s preeklampií se FMc buňky vyskytují častěji a také ve vyšších koncentracích (Gammill *et al.*, 2013). Později byl tento fakt potvrzen. FMc se vyskytoval častěji u žen s preeklampií. FMc pozitivních vzorků pocházejících od žen s preeklampií bylo dokonce 55,6 % v porovnání s 16,7 % FMc pozitivních vzorků u zdravých žen. Zdá se, že tento významný rozdíl v množství vzorků pozitivních na FMc u žen s preeklampií je způsoben poruchou placentace, která vede k její dysfunkci. Toto může způsobovat větší průnik fetálních buněk do krve matky. Tyto fetální buňky se mohou následně podílet na vzniku zánětu endotelu matky, který přispívá ke vzniku hypertenze a proteinurie (Fjeldstad *et al.*, 2018). Jak již bylo zmíněno dříve, vznik preeklampsie souvisí nejen se zvýšeným přenosem FMc buněk do organismu matky, ale také

s nedostatečným nebo nulovým přenosem MP MMc buněk od matky do organismu plodu. U žen, s rozvojem preeklampsie nebyl detekován přenos MP MMc buněk do krve a tkání dítěte (Gammill *et al.*, 2011).

6.2 Autoimunitní onemocnění

Autoimunitní onemocnění je porucha, při které dochází k odpovědi imunitního systému na antigeny vlastního těla, tzv. autoantigeny, a tím k poškozování tkání organismu. Vznik autoimunitních onemocnění souvisí i s těhotenstvím a vznikem mikrochimérismu. Fetální buňky, které během těhotenství přechází do organismu matky, jsou schopny diferencovat na zralé imunokompetentní buňky, jako jsou například makrofágy, lymfocyty nebo NK buňky. Tyto buňky ale rozeznávají mateřské antigeny jako cizí, proto na ně mohou reagovat svojí aktivací a vznikem imunitní odpovědi. Fetální buňky tedy mohou v matčině organismu zprostředkovat rozvoj onemocnění reakce štěpu proti hostiteli, který vede ke vzniku autoimunitních onemocnění. Autoimunitní choroby, které mohou být spojeny s FMc, jsou například Hashimotova tyreoiditida, systémový lupus erythematosus, Sjögrenův syndrom nebo systémová sklerodermie (Shrivastava *et al.*, 2019).

6.2.1 Vliv mikrochimérismu na vznik autoimunitních onemocnění

Autoimunitními chorobami trpí zejména ženy, a to až z 80 % na rozdíl od mužů. Bylo proto zkoumáno, čím může být tento obrovský nepoměr způsoben. Mezi možné hypotézy patří těhotenství, reaktivita imunitního systému, která je u žen obecně vyšší než u mužů nebo rozdíly mezi ženskými a mužskými hormony (Shrivastava *et al.*, 2019).

Systémová sklerodermie (systemic scleroderma, SSc) je závažné chronické autoimunitní onemocnění pojivové tkáně, které primárně postihuje ženy a je nejčastěji diagnostikováno po 40. až 50. roce. Dochází při něm ke zbytnění tkání a orgánů, což může vést k jejich selhání. Vyskytuje se až 8krát častěji u žen než u mužů. V rámci jedné studie bylo zjištěno, že ve srovnání se zdravými ženami, je u nemocných žen vyšší koncentrace FMc buněk v populaci periferních krevních mononukleárních buněk v krvi. Bylo také zjištěno, že se fetální mikrochimérické T-lymfocyty vyskytovaly častěji ve skupině žen nemocných SSc než u zdravých žen. Většina pacientek se SSc ale užívala imunosupresivní léky, což výrazně ovlivňuje váhu tohoto nálezu. Fetální T-lymfocyty však byly nalezeny i u zdravých žen, což znamená, že jejich pouhá přítomnost zřejmě nezpůsobuje patologii. Faktory určující, zda má

FMc na člověka negativní či pozitivní účinky, jsou genotyp HLA matky, genotyp HLA FMc buněk a jejich vzájemný vztah (Nelson *et al.*, 1998; Lambert *et al.*, 2002).

V souvislosti s výskytem SSc, byla zkoumána kromě přítomnosti FMc buněk také přítomnost MMc buněk u zdravých a nemocných žen. Pro zjištění rozdílu kvantity maternálních mikrochimérických buněk u zdravých žen a u žen trpících systémovou sklerodermií, byly odebírány vzorky krve nemocné ženy a její matky. Maternální mikrochimérismus byl detekován u 22 % zdravých žen a u nemocných žen v 72 %. Dá se tedy říct, že ženy trpící SSc měly značně vyšší pravděpodobnost výskytu MMc v porovnání se zdravými ženami. U žen se SSc, byly MMc buňky detekovány nejčastěji v plicích, srdci, slezině a slinivce břišní. Oproti tomu v ledvinách, brzlíku a vaječnících MMc detekován nebyl, což ale podle autorů může souviset s velmi malým množstvím vzorků odebraných z těchto orgánů (Lambert *et al.*, 2004).

Dalším autoimunitním onemocněním, které může být asociované s mikrochimérismem je Sjögrenův syndrom (SS). Jde o autoimunitní onemocnění, které postihuje exokrinní žlázy jako jsou slzné, slinné a v některých případech i exokrinní žlázy slinivky břišní. Vzhledem k tomu, že byl pozorován vyšší výskyt tohoto syndromu u žen po porodu, tak byl zkoumán vztah rozvoje onemocnění s těhotenstvím. Ve studii provedené Endo *et al.* (2002) nebyl detekován žádný výrazný rozdíl v množství FMc buněk v krvi u žen se SS a zdravými ženami. Na druhou stranu, ve vzorcích odebraných ze slinných žláz, byl objeven v koncentracích FMc zásadní rozdíl. FMc byl detekován u 11 z 20 žen se SS, kdežto u zdravých žen pouze u jedné z 8. Předpokládá se, že se tyto buňky přímo nebo nepřímo podílí na destrukci slinných žláz. Přítomnost FMc buněk v slinných žlázách naznačuje, že na rozvoj SS může mít vliv fetálními mikrochimérickými buňkami vyvolané onemocnění štěpu proti hostiteli (Endo *et al.*, 2002; Shrivastava *et al.*, 2019).

6.2.2 Vliv mikrochimérismu na probíhající autoimunitní onemocnění

Během těhotenství dochází ke vzniku přechodného stavu tolerance, který je nezbytný pro zabránění odmítnutí plodu imunitním systémem matky. Tento stav však může zároveň zabráňovat progresi určitých autoimunitních onemocnění prostřednictvím zvýšeného počtu T_{reg} lymfocytů, které vznikají během těhotenství pro ustanovení tolerance. Roztroušená skleróza (RS) je autoimunitní onemocnění, při kterém autoreaktivní T-buňky rozeznávají vlastní antigeny v centrální nervové soustavě a způsobují tak demyelinizaci nervů, což vede k snížení schopnosti přenosu nervových vzruchů. Vyskytuje se nejčastěji u mladých lidí ve věku 20–30

let a postihuje dvakrát častěji ženy než muže. Roztroušená skleróza má různé formy progresu. Nejčastěji se však střídají období atak a remisí. V rámci jedné studie byl zjišťován vliv probíhajícího těhotenství na snížení míry relapsů za rok (mean relapse rate, MRR). Na počátku těhotenství byl zaznamenán pokles MRR v porovnání s dobou, kdy žena těhotná nebyla. Během období šestinedělí bylo pozorováno mírné zvýšení MRR, které však nebylo nijak významné. Tento výkyv je zřejmě způsoben velmi rozdílnými hormonálními vlivy na imunitní systém v těhotenství a poté v šestinedělí. Tato studie podporuje teorii, že těhotenství může mít protektivní vliv na RS díky svému imunosupresivnímu charakteru (Salemi *et al.*, 2004).

Zaměřením další studie bylo zjištění vlivu regulačních T-lymfocytů na RS během těhotenství. V těhotenství bylo zaznamenáno zvýšení CD4 + CD25 + T-lymfocytů u těhotných pacientek s RS i u zdravých žen. Množství T_{reg} bylo významně vyšší u těhotných žen než u žen, které těhotné nebyly. U pacientek s RS se poté množství CD4 + CD25 + T-lymfocytů v šestinedělí výrazně snížilo, zatímco množství CD4 + CD25^{high} + T-lymfocytů, se významně zvýšilo. CD4 + CD25^{high} + lymfocyty jsou schopné zcela inhibovat proliferaci a produkci cytokinů pomocných CD4 + T-lymfocytů, čímž se mohou podílet na patogenezi autoimunitních onemocnění. To by mohlo vysvětlovat zvýšení aktivity RS v šestinedělí. Tato studie potvrzuje teorii vlivu regulačních CD4 + CD25 + T-lymfocytů na potlačení aktivity RS během těhotenství (Sánchez-Ramón *et al.*, 2005).

6.3 Obnova poškozených tkání

Kmenové buňky jsou známé svojí schopností sebeobnovy, migrace do místa poškození a diferenciace do daného buněčného typu. Pluripotentní buňky, které mohou diferencovat ve všechny buněčné typy s výjimkou trofoblastu, jsou například embryonální kmenové buňky a indukované pluripotentní kmenové buňky. Kmenové buňky, které se vyskytují v organismu u dospělých lidí, jsou multipotentní kmenové buňky, které jsou schopné diferencovat do různých buněčných typů, ale pouze v rámci dané tkáně nebo orgánu. Příkladem jsou hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells, HSCs) a mezenchymální kmenové buňky (mesenchymal stem cells, MSCs), které se v organismu dospělého člověka vyskytují hojně. HSC sídlí v kostní dřeni, kde se nepřetržitě dělí a zajišťují tvorbu červených a bílých krvinek a krevních destiček. MSCs jsou schopny diferenciace např. na chondrocyty, adipocyty nebo také osteocyty a dnes je již také dokázán jejich imunomodulační potenciál. Díky své schopnosti diferenciace, jsou důležité pro obnovu poškozených a opotřebovaných tkání mezodermálního původu. V různých studiích jsou také zmínky o tom, že HSCs a MSCs mohou občas

diferencovat i na jiné buněčné typy, než jsou pro ně typické. Mohou tvořit například buňky svalové, kardiomyocyty, podílet se na regeneraci ledvin nebo nervového systému. V průběhu života se však počet kmenových buněk snižuje a jejich ubývání je zřejmě příčinou stárnutí organismu. Fetální kmenové buňky, které mohou pronikat během těhotenství a porodu do organismu matky, jsou proto možným zdrojem nových kmenových buněk s velkým reparačním potenciálem (Dulak *et al.*, 2015).

Už při experimentech na potkanech byl potvrzen regenerační potenciál buněk pocházejících z plodu. Po indukci poškození jater u samice potkana, která porodila mláděta, byly v játrech nalezeny fetální buňky značené fluorescenčně. Buňky byly identifikovány jako hepatocyty, což znamená, že se buňky plodu podílely na tvorbě hepatocytů v mateřských játrech a mohly tak reagovat na indukované poškození (Wang *et al.*, 2004).

U lidí je z etických důvodů možné provádět studie výskytu mikrochimérických buněk v tkáních pouze z tkání odebraných při biopsii nebo například z nefunkčních orgánů vyjmutých při transplantaci. Proto je studium výskytu mikrochimérických buněk v různém spektru tkání člověka oproti zvířecím modelům značně omezené. Pro diagnostické účely se často využívá excize tkáně při operaci neboli biopsie, která může poskytnout i část vzorku pro výzkum, pokud pacient souhlasí. U pacientky se žloutenkou typu C byl po biopsii jater detekován velmi vysoký počet mužských fetálních buněk. Tyto buňky zřejmě migrovaly do organismu ženy během těhotenství a poté při rozvoji onemocnění do poškozených jater, kde diferencovaly do funkčních hepatocytů. Podle doby, která uběhla od porodu, mohly být FMc buňky přítomny v těle ženy až 19 let (Johnson *et al.*, 2002). V další studii byly mužské buňky detekovány ve vzorcích žen s onemocněním štítné žlázy. U zdravých kontrol detekovány nebyly. Tyto buňky zřejmě také pocházely z období těhotenství nebo porodu, kdy migrovaly do matčina organismu a poté se infiltrovaly do tkáně štítné žlázy. U jedné ženy, byly dokonce nalezeny plně diferencované buňky štítné žlázy pocházející z buněk plodu. Lze tedy říct, že u žen, jež byly někdy těhotné, se mohou fetální mikrochimérické buňky podílet na reparaci poškozených tkání při různých onemocněních (Srivatsa *et al.*, 2001). Z tohoto důvodu se také usuzuje, že FMc kmenové buňky mohou být důvodem delšího dožití žen oproti mužům. FMc buňky mají totiž reparační potenciál, takže mohou obnovovat tkáně, které se v mužském těle již tak dobře obnovovat nemusí.

6.4 Neurodegenerativní onemocnění

Alzheimerova choroba (Alzheimer's disease, AD) je neurodegenerativní onemocnění, které je charakterizováno poruchami kognitivních funkcí, například zhoršení paměti, ztráta schopnosti porozumět mluvenému slovu a rozpoznávat a používat známé předměty. V rámci výzkumu souvislostí mezi plodností a počtem narozených dětí u žen trpících AD, byl prokázán vliv těhotenství na vznik této choroby. Důležitým hormonem, který ovlivňuje rozvoj této choroby je estrogen. Autoři předpokládají, že díky vyšší expozici přirozenému estrogeneru u žen, které děti neměly, u nich lze předpokládat, že budou mít menší riziko rozvoje AD než ženy, jež dítě měly (Ptok *et al.*, 2002). Na rozvoj AD mají také vliv fetální buňky v matčině mozku. Ve studii byly testovány vzorky mozkové tkáně zdravých žen a žen trpících AD. Fetální mikrochimérické buňky byly detekovány ve 46 % odebraných vzorků od zdravých žen a ve 29 % vzorků od žen trpících AD. Z toho vyplývá, že šance na rozvoj AD u osob s detekovaným FMc je o 60 % nižší než u osob, u nichž FMc nebyl detekován. Části mozku, o nichž se předpokládá, že jsou při výskytu AD nejvíce poškozené, jsou hipokampus, amygdala, frontální lalok, temporální lalok a temenní lalok. Po analyzování vzorků odebraných z těchto nejvíce postižených částí byl výskyt fetálních buněk potvrzen u 50 % vzorků od zdravých žen a u 34 % vzorků od žen trpících AD. Dá se tedy říct, že i v tomto případě přítomnost FMc buněk v mozku matky snižuje šanci rozvoje AD (Chan *et al.*, 2012).

6.5 Nádorová onemocnění

Nádorová onemocnění vznikají *in vivo* víceetapovým procesem. Jedná se o soubor genetických změn v buněčném genomu a epigenetických i negenotoxických změn ve stadiu nádorové iniciace, promoce a progresu. Při iniciaci nádorového onemocnění dochází působením mutagenů k akumulaci mutací v buňkách, které se následně začínají nekontrolovaně dělit a neodpovídají na signály od okolních buněk. Mutageny jsou obecně děleny na fyzikální (UV záření), chemické (např. azbest) a biologické (viry). Mezi nejznámější onkogenní viry patří zejména papillomaviry, které mají schopnost inaktivovat onkosupresorové geny a způsobovat karcinom děložního čípku nebo herpetické viry, jako například virus Hepatitidy B, který může způsobit rakovinu jater.

Při promoci nádoru dochází k intenzivnímu dělení transformovaných buněk a kumulaci buněčné hmoty na jednom místě (primární nádor), která může poškozovat daný orgán nebo ovlivňovat jeho funkci. V rámci progresu pak u buněk maligních nádorů dochází k sérii definovaných kroků neboli metastatické kaskádě. Tato kaskáda zahrnuje uvolnění buňky

z primárního nádoru, epitel-mezenchymální tranzice, přenos krevním (lymfatickým) řečištěm, epitel-mezenchymální tranzice v jiné lokalitě, uchycení v nové tkáni, přežívání a proliferace, vznik mikro – a makrometastáz (sekundární nádor).

V posledních letech byla souvislost mezi vznikem maligních nádorů a těhotenským mikrochimérismem hojně zkoumána. Byla zjišťována asociace, jak s typicky ženskými nádory – karcinom prsu, karcinom děložního čípku, tak i u nádorů štítné žlázy, krve nebo plic. Z obecného hlediska se ukazuje, že vliv fetálních mikrochimérických buněk na vznik nádorů je spíše ochranný než patologický (Fugazzola *et al.*, 2010).

Karcinom prsu je maligní nádorové onemocnění, které postihuje převážně ženy. Muži jsou postiženi jen v méně než 1 % případů. Mezi ženami s karcinomem prsu mělo detekovatelný FMc pouze 14 % žen ve srovnání se zdravými kontrolami, u kterých byl FMc detekován ve 43 % případech (Gadi a Nelson, 2007). V další studii byl nízký výskyt FMc u žen s karcinomem prsu v porovnání se zdravými ženami také pozorován, konkrétně ve skupině žen s karcinomem prsu byl FMc detekován ve 26 % případů, u zdravých žen dokonce v 56 %. Zároveň i počet přítomných FMc buněk u zdravých žen byl vyšší než u žen s karcinomem prsu (Gadi *et al.*, 2008). Je tedy zřejmé významné snížení výskytu FMc buněk u žen s rakovinou prsu ve srovnání se zdravými ženami. I u žen s karcinomem vaječníků byl FMc detekován ve 46 %, u zdravých kontrol v 65,9 % (Hallum *et al.*, 2020). Můžeme tedy říct, že FMc buňky by mohly mít ochranný vliv na rozvoj karcinomu prsu a vaječníků. Ženy s detekovaným FMc měly menší riziko vzniku rakoviny prsu i vaječníků než ženy, u kterých FMc detekován nebyl.

7. Závěr

Mikrochimérismus, je velmi zkoumaným a rozšířeným jevem. Přestože nejsou dosud známy všechny mechanismy jeho vzniku u lidí, tak se bezpochyby jedná o velmi důležitý nástroj k indukci tolerance pro udržení těhotenství a významný zdroj kmenových buněk pro obnovu tkání u matky. Zároveň je také známo, že může být i velmi nebezpečný. Mikrochimérické buňky mohou například ničit organismus příjemce štěpu při rozvoji onemocnění aGvHD po transplantaci. Tyto buňky jsou také schopny způsobovat autoimunitní onemocnění, která mohou velmi snižovat kvalitu života matky nebo se podílet na vzniku preeklampsie, kdy je přenos FMc buněk abnormálně vysoký. Vzhledem k tomu, že mikrochimérismus vzniká naprosto běžně přirozenými mechanismy, má jeho výzkum veliký význam. Například lze využít velkého množství kmenových buněk v pupečnickové krvi k transfuzi nebo v regenerativní medicíně díky jejich diferenciačnímu potenciálu. Využití poznatků o zpomalení progresu autoimunitních onemocnění během těhotenství prostřednictvím regulačních T-lymfocytů, by mohlo pomoci v tvorbě nových léčebných postupů různých autoimunitních chorob. A v neposlední řadě rozšíření možností využití mikrochimérických buněk v periferní krvi nejen ke včasnému zjištění aneuploidie plodu, ale i předcházení dalším těhotenským komplikacím.

8. Seznam literatury

Hvězdičkou * jsou označeny shrnující články.

Adams Waldorf, K. M., Gammill, H. S., Lucas, J., Aydelotte, T. M., Leisenring, W. M., Lambert, N. C., & Nelson, J. L. (2010). Dynamic changes in fetal microchimerism in maternal peripheral blood mononuclear cells, CD4+ and CD8+ cells in normal pregnancy. *Placenta*, 31(7), 589–594.

Ariga, H., Ohto, H., Busch, M. P., Imamura, S., Watson, R., Reed, W., & Lee, T. H. (2001). Kinetics of fetal cellular and cell-free DNA in the maternal circulation during and after pregnancy: implications for noninvasive prenatal diagnosis. *Transfusion*, 41(12), 1524–1530.

Bianchi, D. W., Farina, A., Weber, W., Delli-Bovi, L. C., Deriso, M., Williams, J. M., & Klinger, K. W. (2001). Significant fetal-maternal hemorrhage after termination of pregnancy: implications for development of fetal cell microchimerism. *American journal of obstetrics and gynecology*, 184(4), 703–706.

Bianchi, D. W., Zickwolf, G. K., Weil, G. J., Sylvester, S., & DeMaria, M. A. (1996). Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93(2), 705–708.

Blumberg, N., Heal, J. M., Gettings, K. F., Phipps, R. P., Masel, D., Refaai, M. A., Kirkley, S. A., & Fialkow, L. B. (2010). An association between decreased cardiopulmonary complications (transfusion-related acute lung injury and transfusion-associated circulatory overload) and implementation of universal leukoreduction of blood transfusions. *Transfusion*, 50(12), 2738–2744.

Brune, T., Riepe, F. G., Garritsen, H., Exeler, R., Louwen, F., & Harms, E. (2003). The Cellular Immune Response of Children is Specifically Decreased Against their Parents but not Vice versa, Independent of Pregnancy, age, or HLA or HY Antigens. *American Journal of Reproductive Immunology*, 49(5), 255–260.

Buxmann, H., Reitter, A., Bapistella, S., Stürmer, M., Königs, C., Ackermann, H., Louwen, F., Bader, P., Schlößer, R. L., & Willasch, A. M. (2016). Maternal CD4+ microchimerism in HIV-exposed newborns after spontaneous vaginal delivery or caesarean section. *Early Human Development*, 98, 49–55.

Campagnoli, C., Roberts, I. A. G., Kumar, S., Bennett, P. R., Bellantuono, I., & Fisk, N. M. (2001). Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*, 98(8), 2396–2402.

Ciardelli, L., Garofoli, F., Avanzini, M. A., De Silvestri, A., Gasparoni, A., Sabatino, G., & Stronati, M. (2007). Escherichia ColiSpecific Secretory IgA and Cytokines in Human Milk from Mothers of Different Ethnic Groups Resident in Northern Italy. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 20(2), 335–340.

Crofts, F., Pino, M., DeLise, B., Guittin, P., Barbellion, S., Brunel, P., Potdevin, S., Bergmann, B., Hofmann, T., Lerman, S., & Clark, R. L. (2004). Different embryo-fetal toxicity effects for three VLA-4 antagonists. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 71(2), 55–68.

Cuckle, H., Benn, P., & Pergament, E. (2015). Cell-free DNA screening for fetal aneuploidy as a clinical service. *Clinical biochemistry*, 48(15), 932–941.

Dawe, G. S., Tan, X. W., & Xiao, Z. C. (2007). Cell migration from baby to mother. *Cell adhesion & migration*, 1(1), 19–27.*

Desai, R. G., & Creger, W. P. (1963). Maternofetal passage of leukocytes and platelets in man. *Blood*, 21, 665–673.

Dulak, J., Szade, K., Szade, A., Nowak, W., & Józkwicz, A. (2015). Adult stem cells: hopes and hypes of regenerative medicine. *Acta biochimica Polonica*, 62(3), 329–337.*

Endo, Y. (2002). Possible contribution of microchimerism to the pathogenesis of Sjogren's syndrome. *Rheumatology*, 41(5), 490–495.

Fjeldstad, H. E., Staff, A. C., Chae, A., Redman, C., Gammill, H. S., & Johnsen, G. M. (2018). 313. Fetal microchimerism in pregnancy and placental dysfunction. *Pregnancy Hypertension*, 13, S122.

Fugazzola, L., Cirello, V., & Beck-Peccoz, P. (2010). Fetal cell microchimerism in human cancers. *Cancer letters*, 287(2), 136–141. *

Gadi, V. K., & Nelson, J. L. (2007). Fetal Microchimerism in Women with Breast Cancer. *Cancer Research*, 67(19), 9035–9038.

Gadi, V. K., Malone, K. E., Guthrie, K. A., Porter, P. L., & Nelson, J. L. (2008). Case-Control Study of Fetal Microchimerism and Breast Cancer. *PLoS ONE*, 3(3), e1706.

Gammill, H. S., Adams Waldorf, K. M., Aydelotte, T. M., Lucas, J., Leisenring, W. M., Lambert, N. C., & Nelson, J. L. (2011). Pregnancy, microchimerism, and the maternal grandmother. *PloS one*, 6(8), e24101.

Gammill, H. S., Aydelotte, T. M., Guthrie, K. A., Nkwopara, E. C., & Nelson, J. L. (2013). Cellular fetal microchimerism in preeclampsia. *Hypertension* (Dallas, Tex.: 1979), 62(6), 1062–1067.

Götherstrom, C., Johnsson, A. M., Mattsson, J., Papadogiannakis, N., & Westgren, M. (2005). Identification of maternal hematopoietic cells in a 2nd-trimester fetus. *Fetal diagnosis and therapy*, 20(5), 355–358.

Hahn, S., Hasler, P., Vokalova, L., van Breda, S. V., Than, N. G., Hoesli, I. M., Lapaire, O., & Rossi, S. W. (2019). Feto-Maternal Microchimerism: The Pre-eclampsia Conundrum. *Frontiers in immunology*, 10, 659.*

Hallum, S., Jakobsen, M. A., Gerds, T. A., Pinborg, A., Tjønneland, A., & Kamper-Jørgensen, M. (2020). Male origin microchimerism and ovarian cancer. *International Journal of Epidemiology*, 50(1), 87–94.

Hassiotou, F., Hepworth, A. R., Metzger, P., Tat Lai, C., Trengove, N., Hartmann, P. E., & Filgueira, L. (2013). Maternal and infant infections stimulate a rapid leukocyte response in breastmilk. *Clinical & Translational Immunology*, 2(4), e3.

Chan, W. F., Gurnot, C., Montine, T. J., Sonnen, J. A., Guthrie, K. A., & Nelson, J. L. (2012). Male microchimerism in the human female brain. *PloS one*, 7(9), e45592.

Chatuphonprasert, W., Jarukamjorn, K., & Ellinger, I. (2018). Physiology and Pathophysiology of Steroid Biosynthesis, Transport and Metabolism in the Human Placenta. *Frontiers in Pharmacology*, 9. *

Chen, C.-P., Lee, M.-Y., Huang, J.-P., Aplin, J. D., Wu, Y.-H., Hu, C.-S., Chen, P.-C., Li, H., Hwang, S.-M., Liu, S.-H., & Yang, Y.-C. (2008). Trafficking of Multipotent Mesenchymal Stromal Cells from Maternal Circulation Through the Placenta Involves Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1 and Integrins. *Stem Cells*, 26(2), 550–561.

Jackman, R. P., Utter, G. H., Lee, T. H., Montalvo, L., Wen, L., Chafets, D., Rivers, R. M., Kopko, P. M., Norris, P. J., & Busch, M. P. (2019). Lack of persistent microchimerism in contemporary transfused trauma patients. *Transfusion*, 59(11), 3329–3336.

Johnson, K. L., Samura, O., Nelson, J. L., McDonnell M.D., W. M., & Bianchi, D. W. (2002). Significant fetal cell microchimerism in a nontransfused woman with hepatitis C: Evidence of long-term survival and expansion. *Hepatology*, 36(5), 1295–1297.

Jonsson, A. M., Uzunel, M., Götherström, C., Papadogiannakis, N., & Westgren, M. (2008). Maternal microchimerism in human fetal tissues. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 198(3), 325.e1-325.e6.

Kishikawa, H., Kinoshita, T., Yonemoto, S., Kawamura, M., Nakazawa, S., Ueda, N., Hirai, T., Nishimura, K., Hashimoto, M., & Ichikawa, Y. (2014). Early microchimerism in peripheral blood following kidney transplantation. *Transplantation proceedings*, 46(2), 388–390.

Klonisch, T., & Drouin, R. (2009). Fetal-maternal exchange of multipotent stem/progenitor cells: microchimerism in diagnosis and disease. *Trends in molecular medicine*, 15(11), 510–518. *

Krabchi, K., Gros-Louis, F., Yan, J., Bronsard, M., Massé, J., Forest, J. C., & Drouin, R. (2001). Quantification of all fetal nucleated cells in maternal blood between the 18th and 22nd weeks of pregnancy using molecular cytogenetic techniques. *Clinical genetics*, 60(2), 145–150.

Krechetova, L. V., Vanko, L. V., Vtorushina, V. V., Nikolaeva, M. A., Inviyaeva, E. V., & Tetrushvili, N. K. (2020). Lymphocyte Activation in the Development of Immune Tolerance in Women with Recurrent Pregnancy Loss. *Biochemistry (Moscow)*, 85(5), 583–593.

Lambert, N. C., Erickson, T. D., Yan, Z., Pang, J. M., Guthrie, K. A., Furst, D. E., & Nelson, J. L. (2004). Quantification of maternal microchimerism by HLA-specific real-time polymerase chain reaction: studies of healthy women and women with scleroderma. *Arthritis and rheumatism*, 50(3), 906–914.

Lambert, N. C., Lo, Y. M. D., Erickson, T. D., Tylee, T. S., Guthrie, K. A., Furst, D. E., & Nelson, J. L. (2002). Male microchimerism in healthy women and women with scleroderma: cells or circulating DNA? A quantitative answer. *Blood*, 100(8), 2845–2851.

Lapaire, O., Holzgreve, W., Oosterwijk, J. C., Brinkhaus, R., & Bianchi, D. W. (2007). Georg Schmorl on trophoblasts in the maternal circulation. *Placenta*, 28(1), 1–5.

Li, A., Abraham, C., Wang, Y., & Zhang, Y. (2020). New insights into the basic biology of acute graft-versus-host-disease. *Haematologica*, 105(11), 2540–2549.*

Lo, Y. M., Lau, T. K., Chan, L. Y., Leung, T. N., & Chang, A. M. (2000). Quantitative analysis of the bidirectional fetomaternal transfer of nucleated cells and plasma DNA. *Clinical chemistry*, 46(9), 1301–1309

Loubière, L. S., Lambert, N. C., Flinn, L. J., Erickson, T. D., Yan, Z., Guthrie, K. A., Vickers, K. T., & Nelson, J. L. (2006). Maternal microchimerism in healthy adults in lymphocytes, monocyte/macrophages and NK cells. *Laboratory Investigation*, 86(11), 1185–1192.

Matsuoka, K., Ichinohe, T., Hashimoto, D., Asakura, S., Tanimoto, M., & Teshima, T. (2006). Fetal tolerance to maternal antigens improves the outcome of allogeneic bone marrow transplantation by a CD4+CD25+ T-cell-dependent mechanism. *Blood*, 107(1), 404–409.

Miech R. P. (2010). The role of fetal microchimerism in autoimmune disease. *International journal of clinical and experimental medicine*, 3(2), 164–168.*

Molès, J.-P., Tuailon, E., Kankasa, C., Bedin, A.-S., Nagot, N., Marchant, A., McDermid, J. M., & Van de Perre, P. (2017). Breastfeeding-related maternal microchimerism. *Nature Reviews Immunology*, 17(11), 729–729.*

Nelson, J. L., Furst, D. E., Maloney, S., Gooley, T., Evans, P. C., Smith, A., Bean, M. A., Ober, C., & Bianchi, D. W. (1998). Microchimerism and HLA-compatible relationships of pregnancy in scleroderma. *The Lancet*, 351(9102), 559–562.

O'Donoghue, K., Chan, J., de la Fuente, J., Kennea, N., Sandison, A., Anderson, J. R., Roberts, I. A., & Fisk, N. M. (2004). Microchimerism in female bone marrow and bone decades after fetal mesenchymal stem-cell trafficking in pregnancy. *The Lancet*, 364(9429), 179–182.

Peterson, S. E., Nelson, J. L., Guthrie, K. A., Gadi, V. K., Aydelotte, T. M., Oyer, D. J., Prager, S. W., & Gammill, H. S. (2012). Prospective assessment of fetal-maternal cell transfer in miscarriage and pregnancy termination. *Human reproduction (Oxford, England)*, 27(9), 2607–2612.

Piper, K. P., McLarnon, A., Arrazi, J., Horlock, C., Ainsworth, J., Kilby, M. D., Martin, W. L., & Moss, P. A. (2007). Functional HY-Specific CD8+ T Cells Are Found in a High Proportion of Women Following Pregnancy with a Male Fetus¹. *Biology of Reproduction*, 76(1), 96–101.

Pritchard, A. E., & Shaz, B. H. (2016). Survey of Irradiation Practice for the Prevention of Transfusion-Associated Graft-versus-Host Disease. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 140(10), 1092–1097.

Ptok, U., Barkow, K. & Heun, R. (2002). Fertility and number of children in patients with Alzheimer's disease. *Arch Womens Ment Health* 5, 83–86.

Salemi, G., Callari, G., Gammino, M., Battaglieri, F., Cammarata, E., Cuccia, G., D'Amelio, M., Lupo, I., Ragonese, P., & Savettieri, G. (2004). The relapse rate of multiple sclerosis changes during pregnancy: a cohort study. *Acta Neurologica Scandinavica*, 110(1), 23–26.

Sánchez-Ramón, S., Navarro, J., Aristimuño, C., Rodríguez-Mahou, M., Bellón, J. M., Fernández-Cruz, E., & Andrés, C. de. (2005). Pregnancy-induced expansion of regulatory T-lymphocytes may mediate protection to multiple sclerosis activity. *Immunology Letters*, 96(2), 195–201.

Shree, R., Harrington, W. E., Kanaan, S. B., Forsyth, A., Cousin, E., Lopez, A., Nelson, J. L., & Gammill, H. S. (2019). Fetal microchimerism by mode of delivery: a prospective cohort study. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 126(1), 24–31.

Shrivastava, S., Naik, R., Suryawanshi, H., & Gupta, N. (2019). Microchimerism: A new concept. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 23(2), 311.*

Sibai, B., Dekker, G., & Kupferminc, M. (2005). Pre-eclampsia. *The Lancet*, 365(9461), 785–799.*

Srivatsa, B., Srivatsa, S., Johnson, K. L., & Bianchi, D. W. (2003). Maternal cell microchimerism in newborn tissues. *The Journal of Pediatrics*, 142(1), 31–35.

Srivatsa, B., Srivatsa, S., Johnson, K. L., Samura, O., Lee, S. L., & Bianchi, D. W. (2001). Microchimerism of presumed fetal origin in thyroid specimens from women: a case-control study. *The Lancet*, 358(9298), 2034–2038.

van Rood, J. J. (2002). Effect of tolerance to noninherited maternal antigens on the occurrence of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation from a parent or an HLA-haploidentical sibling. *Blood*, 99(5), 1572–1577.

Wang, Y., Iwatani, H., Ito, T., Horimoto, N., Yamato, M., Matsui, I., Imai, E., & Hori, M. (2004). Fetal cells in mother rats contribute to the remodeling of liver and kidney after injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 325(3), 961–967.

Yan Zhong, X., Bürk, M. R., Troeger, C., Jackson, L. R., Holzgreve, W., & Hahn, S. (2000). Fetal DNA in maternal plasma is elevated in pregnancies with aneuploid fetuses. *Prenatal Diagnosis*, 20(10), 795–798.